

DIE BEEINFLUSSUNG DES
ELEKTROPHORETISCHEN SERUMEIWEISSBILDES
DURCH AETHYLENOXYD

von

CHRISTIANE DOLHAINE

1963

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. P. Klein)

DIE BEEINFLUSSUNG DES
ELEKTROPHORETISCHEN SERUMEIWEISSBILDES
DURCH AETHYLENOXYD

Inaugural-Dissertation

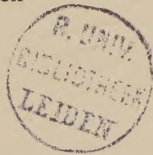
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

CHRISTIANE DOLHAINE

aus Lüdenscheid/Westfalen



MAINZ 1963

Dekan: Professor Dr. H. Bredt
Referent: Professor Dr. Dr. G. Gillissen
Korreferent: Professor Dr. P. Klein
Tag der mündl. Prüfung: 18. Februar 1963

GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

INHALT

- 1) Einleitung und Ziel der Arbeit
- 2) Einfluß von Aethylenoxyd auf biologische Substanzen
(literarische Übersicht)
- 3) Das elektrophoretische Serumeiweißbild im
Hammelserum

EIGENE VERSUCHE

- 4) Material und Methoden
- 5) Besprechung der Ergebnisse
- 6) Diskussion
- 7) Zusammenfassung
- 8) Literatur

1) Einleitung und Ziel der Arbeit

Die Möglichkeit, mit Äthylenoxyd (ÄO) Mikroorganismen abzutöten, ist seit 1929 bekannt. Die praktische Anwendung dieses Stoffes hat aber erst in neuerer Zeit eine breitere Anwendung erfahren.

Im Speziellen interessiert ÄO zur Sanierung milzbrandverseuchter Felle und Häute, da es bisher noch kein Verfahren gab, Milzbrandsporen ohne eine Beeinträchtigung der späteren Lederqualität auf Fellen und Häuten zu vernichten. Es konnten vor kurzem die Bedingungen aufgezeigt werden, unter denen es möglich ist, mit ÄO Felle und Häute zu desinfizieren (Gillissen und Scholz).

Da ÄO ein bakterizides Mittel ist, muß auf jeden Fall angenommen werden, daß die Abtötung von Bakterien über eine Beeinflussung des Zelleiweißes zustandekommt. Damit besteht aber auch die Gefahr einer Beeinträchtigung von Hauteiweiß, und zwar speziell des Kollagens. Deswegen sollte im einzelnen festgestellt werden, bei welchen Einwirkungszeiten, Druckwerten und Temperaturen im Verhältnis zu entsprechenden Kontrollen Eiweiß deutlich verändert wird. Als Kriterium sollte dabei die elektrophoretische Wanderung auf Papier herangezogen werden. Dies lag nahe, da sich das papier-elektrophoretische Eiweiß-Spektrum in Abhängigkeit von der Aufbewahrungstemperatur des Serums (Moore, Roberts, Costello und Schonberger, Waterstradt), nicht aber bei Luftabschluß (Lang, Feinen, Gremer), (Gillissen und Groeneveld) ändert.

2) Einfluß von Äthylenoxyd auf biologische Substanzen

ÄO stellt die einfachste Verbindung der sogenannten Epoxy-Verbindungen dar. Es besitzt folgende Strukturformel:



Einer der Vorteile der Substanz ist, daß der Siedepunkt (bei 760 mm Hg) bei +10,73°C liegt (Beilstein). Deswegen kann man für Desinfektionszwecke ÄO als Gas auch bei üblichen Raumtemperaturen benutzen. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, daß ÄO in Gegenwart von Luftsauerstoff

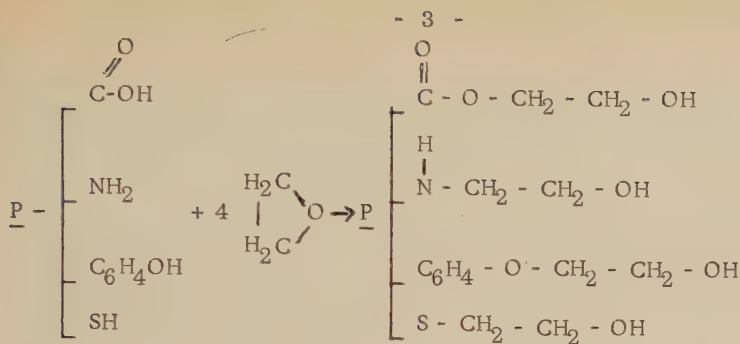
hochexplosiv ist (untere Explosionsgrenze 3,0 Vol%, obere Explosionsgrenze 80,0 Vol%). Diese Gefahr wird durch Beimengung von CO_2 in einer Konzentration von etwa 90% vermieden.

ÄO ist in Luft und Wasser nicht beständig. Es hydrolysiert schnell zu dem ungiftigen Aethylenglykol. In flüssiger Form ist es vor allem für Gummi ein sehr aggressives Lösungsmittel.

Die Versuche von Wilson und Bruno zeigten, daß man mit ÄO flüssige, bakteriologische Nährböden ebenso wie Milch und Serum sterilisieren kann. Diese Versuche lagen nahe, da ÄO schnell hydrolysiert wird. Da die so behandelten Nährböden sich für die bakteriologische Diagnostik als brauchbar erwiesen, könnte man daran denken, daß keine wesentlichen Veränderungen der Nährstoffe eingetreten sind. Dieser Annahme würden zunächst auch die Versuche von Hawk und Mickelsen entsprechen, die Mäusediätfutter mit ÄO in Dampfform sterilisierten.

Von besonderer Bedeutung für unsere Fragestellung sind die Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des bakteriziden Effekts von ÄO. Gross und Dixon nahmen ursprünglich an, daß für die Keimabtötung das bei der Hydrolyse von ÄO entstehende Aethylenglykol wesentlich sei. Später wurde dann festgestellt, daß das Aethylenglykol nur eine unwesentliche bakterizide Wirkung gegenüber dem ÄO besitzt (Jesaic und Williams, zit. Phillips und Kaye u. a.). Eine genauere Untersuchung von Robertson u. a. (zit. Wilson und Bruno) ergab in diesem Sinne, daß zur Sterilisation einer Nährbouillon 15% Aethylenglykol, aber nur 0,5% ÄO notwendig sind.

Die Möglichkeit einer Beeinflussung von Eiweiß durch ÄO ergab sich aus den Versuchen von Fraenkel-Conrat. Es wurde gezeigt, daß Epoxyde, wie beispielsweise ÄO, in der Lage sind, mit Proteinen zu reagieren. Die dabei entstehenden Produkte besitzen im Gegensatz zum Ausgangsmaterial eine geringere Anzahl freier Carboxyl-, phenolischer Hydroxyl-, primärer Amino- und Sulfhydrylgruppen. Durch nachfolgendes Schema sind die Reaktionen dargestellt, welche Epoxyde mit funktionellen Gruppen in den Seitenkettenresten der Proteine (P) eingehen.



Danach werden freie Carboxylgruppen verestert, wodurch der isoelektrische Punkt der Proteine verschoben wird. Die Löslichkeit der Proteine verändert sich in neutraler und alkalischer Lösung. Sekundäre Amine entstehen durch Addition der Epoxyde an primäre Aminogruppen, wodurch aber der basische Charakter der Proteine praktisch nicht beeinflusst wird. Eine Umsetzung in Aether bzw. Thioaether erfolgt mit phenolischen Hydroxyl- und SH-Gruppen.

Kaye und Phillips erklären die Notwendigkeit einer gewissen Feuchtigkeit für den desinfizierenden Effekt von ÄO damit, daß labile H-Atome zur Alkylierung der Proteinendgruppen durch ÄO nötig sind.

Ergänzend sei im Hinblick auf die eigenen Versuche erwähnt, daß die Sterilisation von Flüssigkeiten mit gespanntem ÄO von dem Oberflächenfaktor abhängig ist. Deswegen lassen sich Flüssigkeiten im Kunststoffbeutel aus ÄO-durchlässigen Folien besser sterilisieren als in einem Reagenzglas. Die Sterilisation von Flüssigkeiten erfordert immer längere Einwirkungszeiten, diese Beobachtungen sind auch in den eigenen Versuchen zu berücksichtigen, bei denen der Einfluß von ÄO auf Serumeiweiß untersucht wurde.

3) Das elektrophoretische Serumeiweißbild im Hammelserum

In der Literatur liegen eine Reihe von Angaben über die Verteilung der einzelnen Serumfraktionen im Gesamtserum bei Tieren vor. Dies gilt besonders für die kleinen Labortiere wie Kaninchen und Ratten. Weniger zahlreich sind die Angaben für das Serum vom Schaf.

Allgemein kann man annehmen, daß das elektrophoretische Eiweiß-Spektrum im Serum von Tieren außerordentlich schwankt. Dies muß bei entsprechenden Untersuchungen in die Überlegungen einbezogen werden. Für das Schafserum gibt Edsall folgende Verteilung der Eiweißfraktionen an:

Albumin	57,3 %
α -Globuline	10,5 %
β -Globuline	7,2 %
γ -Globuline	25,0 %

Svensson untersuchte die Zusammensetzung von 10 Schafseren im Hinblick auf die Größe der elektrophoretisch trennbaren Eiweißanteile. Er wies darauf hin, daß bei der Untersuchung einer größeren Zahl normaler Individuen der gleichen Art erhebliche Schwankungen in der Eiweißzusammensetzung des Serums zu beobachten sind. Die Streuung der einzelnen Werte ist sehr groß. In Tabelle 1 sind die einzelnen Daten wiedergegeben.

Tabelle 1: Der Anteil der elektrophoretisch getrennten Eiweißfraktionen am Gesamtserum von Schafen

Albumin	Globulin α	β	γ
63,4	7,85	4,75	24,1
46,85	6,80	9,35	37,0
48,2	7,0	7,85	36,95
60,1	5,3	10,8	23,8
58,9	15,75	4,7	20,65
59,0	15,15	5,55	20,33
54,1	19,35	5,3	21,25
64,0	8,75	4,15	23,1
63,8	6,2	11,35	18,65
54,6	13,2	8,4	23,8
$\bar{x}$ 57,3	10,5	7,2	25,0
+s.d. 6,2	4,9	2,7	6,5

Die in Tab.1 wiedergegebenen Daten wurden unter Verwendung der Tiselius-apparatur gewonnen. Betrachtet man die zu den Mittelwerten errechnete Standarddeviation (s.d.), dann wird sehr deutlich, wie groß die biologische Streuung ist.

Auch Stürmer weist darauf hin, daß die Werte beim Tier - die Untersuchungen wurden allerdings mit Kaninchenserum durchgeführt - wesentlich mehr schwanken als beim Menschen. Es liegen also ganz ähnliche Verhält-

nisse vor wie bei der Beurteilung des Differentialblutbildes (Cohrs, Jaffé u. Meessen).

Stürmer hat aber den Eindruck gewonnen, daß jedes Tier individuelle, um einen bestimmten Mittelwert pendelnde Schwankungsbereiche hat, die diesem Tier offenbar eigen sind.

Ähnlich wie beim Kaninchen haben wir bei Schafen (s.u.) gefunden, daß die Trennung der α -Globuline von Albumin nicht so sauber möglich ist wie beim Humanserum und in vielen Fällen findet man eine $\alpha_1 + \alpha_2$ -Komponente. Bei konstanten Versuchsbedingungen erhält man bei einem gesunden Tier Werte, die man in gewisser Beziehung als Individualwerte bezeichnen könnte. Dies hat zur Folge, daß man sich bei der Beurteilung einer Veränderung der Größe von elektrophoretisch getrennten Eiweißfraktionen des Serums unter dem Einfluß irgendeines physikalischen oder chemischen Faktors auf die Differenz zu der entsprechenden Luftkontrolle bezieht.

Papierelektrophoretische Untersuchungen mit Serum von Schafen liegen von Geinitz vor. Dieser Autor fand die in Tabelle 2 angegebenen Werte, verglichen mit den Ergebnissen anderer Autoren.

Tabelle 2: Die Serum- bzw. Plasmaeiweißwerte in relativen Prozent

Albumine			Globuline						
	α_1	α_2	α_3	Gesamt- α	β	4	8	Methode	Autoren
43,7	9,8	6,7		16,5	15,0	9,7	15,0	Tiselius	Deutsch u. Mitarb.
53,6	4,7	9,9	6,6	21,1	16,3		9,4		
(48,3- 60,8	(2,8-(8,1- 7,3)11,7)	(3,0- 8,9)	(17,4- 24,0)	(12,8- 20,2)		(5,3- 13,2)		P.E.	Geinitz
57,3				10,5	7,2		25,0		Edsall

Aus Tab.2 ist zu entnehmen, daß die individuellen Streuungen der einzelnen Fraktionswerte bei ein und demselben Autor wesentlich schwanken. Überdies ist ersichtlich, wie vorsichtig man verfahren muß, wenn man die Werte von verschiedenen Autoren untereinander vergleichen will. Für die Differenzen zwischen den Werten verschiedener Autoren bei Seren der gleichen Tierart kommen verschiedene Ursachen in Frage. Zuerst wäre zu nennen, daß die mit der freien Elektrophorese, sei es mit der Makroelektrophorese nach Ti-

selius oder der Mikroelektrophorese nach Antweiler gewonnenen Resultate stets gewisse Abweichungen von denen der Papierelektrophorese zeigen. Auch spielt die Art des Puffers und das pH eine Rolle (Bradish u. Mitarb., König u. Mitarb. u. v. a.). Schwierig ist auch manchmal die Zuweisung der einzelnen Eiweißfraktionen zu einer Hauptfraktion, da die Wanderungsgeschwindigkeiten der einzelnen Fraktionen bei Tierseren nicht immer mit denen des Menschen übereinstimmen.

EIGENE VERSUCHE

4) Material und Methoden

ÄO lag in einer Mischung mit CO_2 (ÄO 10%, CO_2 90%) in Stahlflaschen vor. Diese Mischung kann mit Luft in jedem Verhältnis gemischt werden, ohne daß eine Explosionsgefahr besteht.

Das Gasgemisch wurde aus der Druckflasche in eine vorgewärmte Kammer geleitet. Es wurde stets darauf geachtet, daß der Druck in der Flasche über 40 kg/cm^2 betrug, da nur unter dieser Voraussetzung das Mischungsverhältnis von ÄO/ CO_2 wie 10%/90% gewährleistet ist.

Mit dieser Anordnung war es möglich, das ÄO/ CO_2 -Gemisch in gasdichte Plastikbeutel zu füllen.

Diese Beutel wurden mit der Kunststoffolie K 122, "Hostaphan" Kalle, Wiesbaden-Biebrich, hergestellt. Diese Folie ist heißsiegelfähig.

Außer einer Beeinflussung der Seren in solchen mit ÄO gefüllten Plastikbeuteln wurden entsprechende Versuche in einem Druckgerät (Sterivit-Gesellschaft, Mainz) durchgeführt. In dieses Gerät wird ebenfalls das ÄO/ CO_2 -Gemisch eingeleitet. Die Temperatur ist regulierbar. Die Einwirkung von ÄO auf das Untersuchungsgut erfolgte unter Druck von $5,5 \text{ kg/cm}^2$.

Für die Versuche wurde Hammelserum von 3 gesunden Tieren benutzt. Bei den einzelnen Versuchen wurde stets festgehalten, von welchem Tier die Blutprobe stammte. Dies erschien wesentlich, da das elektrophoretische Eiweißspektrum gewisse individuelle Unterschiede zeigen soll, wobei aber für das einzelne Tier die zu verschiedenen Zeiten ermittelten Werte in einem verhältnismäßig kleinen Bereich um einen Mittelwert schwanken sollen (Stürmer).

Die frisch entnommenen Blutproben wurden 1 Std. lang im Eisschrank zur Absetzung des Blutkuchens aufbewahrt, dann zentrifugiert und das Serum gewonnen. Es wurde nur haemolysefreies Serum benutzt. Die Serumproben wurden in zylindrische Glasgefäße mit einem Querschnitt von 1,0 cm und einer Höhe von 2,5 cm gegeben. Da die Schichthöhe wesentlich ist, wurde diese auf 0,5 cm, 1,0 cm und 2,0 cm eingestellt.

Die Beeinflussung dieser Serumproben durch $\ddot{A}O$ erfolgte einmal in Plastikbeuteln und zum anderen im Druckgerät bei verschiedenen Temperaturen; in bestimmten Intervallen wurden Serumproben zur Untersuchung entnommen. Als Kontrolle dienten dieselben Serumproben bei denselben Aufbewahrungszeiten und Aufbewahrungstemperaturen, jedoch in Abwesenheit von $\ddot{A}O$. Die Kontrolle zu den Versuchen im Druckgerät wurde denselben Temperaturen, jedoch ohne Druck, ausgesetzt.

Um einen CO_2 -Effekt auszuschließen, wurden entsprechende Kontrollen mit CO_2 allein angesetzt. Zu diesem Zweck wurde CO_2 sowohl in die Plastikbeutel als auch in das Druckgerät geleitet.

Zusammenfassend kann man also sagen, daß die Versuche über eine Beeinflussung des Serums durch $\ddot{A}O$ sowohl in Plastikbeuteln als auch im Druckgerät bei verschiedenen Temperaturen und Einwirkungszeiten sowie mit 3 verschiedenen Flüssigkeitshöhen durchgeführt wurden. Zur Kontrolle wurden entsprechende Versuche ohne das $\ddot{A}O/CO_2$ -Gemisch sowie mit CO_2 allein angesetzt.

Zur besseren Übersicht sei die gesamte Versuchsanordnung in einem Schema wiedergegeben. (Siehe Tab.3, Seite 8).

Diese Versuche wurden sowohl im Druckapparat als auch im Kunststoffbeutel durchgeführt.

Dieselbe Anordnung der Versuchsdurchführung gilt sowohl für eine Versuchstemperatur von 37° als auch für eine solche von 30° und von $20 - 23^\circ C$ (Zimmertemperatur).

Je nach Ausfall der Resultate wurden einzelne Zeitwerte ausgelassen. Gelegentlich wurden ganze Versuchsreihen wiederholt.

Die einzelnen Serumproben wurden im Anschluß an die Beeinflussung durch $\ddot{A}O$ papierelektrophoretisch untersucht. Da auch durch andere Faktoren als durch $\ddot{A}O$ allein, d.h. beispielsweise durch die Versuchszeit als solche bei einer bestimmten Temperatur eine Veränderung des elektrophoretischen Eiweiß-Spektrums zustande kommt, konnten die nach dem Versuch ermittel-

ten Werte nicht auf die Werte bezogen werden, die man unmittelbar nach der Blutentnahme gewinnt. Deswegen wurden für die Beurteilung der Ergebnisse die Differenzen zwischen den Fraktionsgrößen der beeinflussten Serumproben zu den Fraktionswerten der entsprechenden Kontrollen herangezogen.

Tabelle 3: Schema der Versuchsanordnung

		37°C				30°C				20 - 23°C			
Zeiten	Flüssigkeits- höhe	ÄO	LK	CO ₂	LK	ÄO	LK	CO ₂	LK	ÄO	LK	CO ₂	LK
30 min	0,5 cm 1,0 cm 2,0 cm												
60 min													
90 min													
2 Std.													
3 Std.													
4 Std.													
5 Std.													
6 Std.													
6 1/2 Std.													
8 Std.													
24 Std.													

Zeichenerklärung: LK = Luftkontrolle

Bei dieser Vielzahl von Versuchen ist es nicht möglich, soviel Wiederholungen durchzuführen, daß eine statistische Berechnung unter Einbeziehung der gerade bei tierischen Seren großen Streubreiten aufzustellen ist. In diesem Falle ist das nicht unbedingt notwendig, weil bei einer deutlich sichtbaren Ver-

änderung eine Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer vorhanden sein muß. Für die Durchführung der Papierelektrophorese wurde das Elphir-Drucktastgerät (Bender & Hobein) benutzt. Als Filterpapier kam das Elektrophoresepapier 2043 a MgI (Schleicher & Schüll) zur Anwendung. Die Versuchsdauer betrug 13 Std.

Sonstige Daten:

Veronalpuffer von pH 8,6 mit einer Ionenstärke von 0,1 m

(29,428 g Veronal-Natrium DABG,

19,428 g Natrium-Acetat crist.,

180 ml n/10 HCl + Aqua dest. ad 3 l)

Gleichspannung von 110 Volt,

Färbung der Fraktionen mit Amidoschwarz 10 B sowie nachfolgender Entfärbung mit Methanol-Eisessig,

verwendetes Serumvolumen 0,007 ml, aufgetragen mit einer Präzisionspipette.

Die nach der Behandlung getrockneten Streifen wurden mit einer Mischung aus Paraffinöl und Bromnaphthalin transparent gemacht. Die Auswertung geschah mit dem Zeiss-Integrator. Nach Auszeichnen der Kurven wurden die Kurvenflächen planimetrisch ausgemessen und die ermittelten Flächenwerte in prozentuale Anteile an Gesamteiweiß umgerechnet.

5) Besprechung der Ergebnisse

Zunächst seien von 2 Tieren die Elektrophoresewerte wiedergegeben, welche bei einer Auftrennung des Serums nach der Blutentnahme ermittelt worden waren.

Bei einem Tier wurden 3 Serumproben, die bei 3 verschiedenen Punktionen gewonnen worden waren, untersucht. Beim zweiten Tier wurden 2 Serumproben von 2 verschiedenen Versuchstagen untersucht (Ergebnisse siehe Tab. 4).

Aus Tab.4 ist zu entnehmen, daß auch bei demselben Tier gewisse Schwankungen der einzelnen Fraktionen auftreten, jedoch sind diese nicht sehr groß. Die Werte der Seren von 2 verschiedenen Tieren unterscheiden sich ebenfalls nicht sehr.

1) In einer ersten Versuchsserie wurde der Einfluß von $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bei 37°C auf das Serum untersucht. Die Glasgefäße mit den Seren wurden in Kuststoffbeuteln aufbewahrt. Die jeweilige Luftkontrolle wurde nur für die Flüssigkeitshöhe von 0,5 cm durchgeführt. Die Ergebnisse mit der Luftkontrolle und CO_2 sind in Tab.5a und 5b wiedergegeben.

Tabelle 4: Normwerte für das papierelektrophoretische Spektrum von Hammelserum

Tier	Punktion	Albumin	Globuline		
			α_1	α_2	γ
Tier 1	1	49,4	5,6	11,8	24,2
	2	51,6	5,4	11,3	23,9
	3	47,2	6,3	11,2	25,5
	$\bar{x}$	49,40	5,76	11,43	24,53
Tier 2	1	51,1	4,9	11,9	23,6
	2	49,9	6,5	11,9	23,4
	$\bar{x}$	50,5	5,7	11,9	23,5

(Fortsetzung Tab. 5a)

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeit in							
		4 ^h		5 ^h		6 ^h		24 ^h	
		ÄO/CO ₂	LK	ÄO/CO	LK	ÄO/CO ₂	LK	ÄO/CO ₂	LK
0,5 cm	Alb.	49,1	46,7	56,8	51,4	48,4	49,1	57,0	44,5
	α ₁	4,7	4,6		2,5	4,7	5,8		
	α ₂	10,0	9,3	12,0	13,9	13,2	15,0	15,8	22,5
	β				6,4				
	γ	36,2	39,4	21,2	25,8	33,7	30,1	27,2	33,0
1,0 cm	Alb.	47,5		49,4		50,7		61,0	
	α ₁	4,7		4,5		4,2			
	α ₂	10,1		14,2		13,1		11,0	
	β								
	γ	37,7		31,9		32,0		28,0	
2,0 cm	Alb.	47,7		51,6		52,0		58,6	
	α ₁	4,7		4,0		4,7			
	α ₂	9,2		11,5		12,5		14,2	
	β			7,1					
	γ	38,4		25,8		30,8		27,2	

Tabelle 5b: Einfluß von CO₂ in Plastikbeuteln auf das elektrophoretische Serumweißbild

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeit in									
		30 min		60 min		90 min		2 ^h		3 ^h	
		CO ₂	LK	CO ₂	LK	CO ₂	LK	CO ₂	LK	CO ₂	LK
0,5 cm	Alb.	50,2	48,3	67,9	3,3	61,2	65,9	48,0	51,5	51,0	51,0
	α_1	3,0	4,0	2,4	3,0	2,4	3,7	3,9	3,7	1,9	3,9
	α_2	11,0	12,8	7,4	9,2	9,4	7,7	11,8	11,4	12,6	12,3
	β	7,5	8,1	6,1	7,2	9,7	5,8	8,3	8,3	8,2	8,9
	γ	28,3	26,8	16,2	17,3	17,3	16,9	28,0	25,1	26,3	23,9
1,0 cm	Alb.	46,2		63,6		67,8		50,9		50,0	
	α_1	4,0		4,3		2,4		3,9		2,4	
	α_2	12,0		7,3		7,1		10,8		14,6	
	β	8,4		5,4		6,4		8,2		7,4	
	γ	29,4		19,4		16,3		26,2		25,6	
2,0 cm	Alb.	48,4		66,3		67,0		52,8		48,2	
	α_1	4,3		2,8		2,8		3,6		3,2	
	α_2	9,2		8,0		7,9		11,8		14,7	
	β	7,8		6,5		5,5		6,8		8,6	
	γ	30,3		16,4		16,8		25,0		25,3	

(Fortsetzung der Tabelle 5b auf Seite 14)

Zeichenerklärung: CO₂ = Versuchsdaten nach Belastung mit CO₂ allein

LK = Luftkontrolle

(Fortsetzung Tab. 5b)

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeit in					
		5 ^h			24 ^h		
		CO ₂	LK	CO ₂	LK	CO ₂	LK
0,5 cm	Alb.	50,5	51,7	49,6	49,2	49,5	47,6
	α_1	2,2	2,2			3,9	4,5
	α_2	10,0	10,3	13,6	13,6	14,0	14,7
	β	8,2	8,4		8,4	7,7	6,3
	γ	29,1	27,4	36,8	28,8	24,9	26,9
1,0 cm	Alb.	52,6		51,0		50,4	
	α_1	2,4		2,9		3,8	
	α_2	10,2		9,6		13,8	
	β	8,1		6,8		7,2	
	γ	26,7		29,7		24,8	
2,0 cm	Alb.	49,2		51,3		51,0	
	α_1	2,5		2,6		3,5	
	α_2	11,5		10,5		12,6	
	β	7,3		5,9		7,3	
	γ	29,5		29,7		25,6	

Tabelle 6: Einfluß von $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bei 37°C auf Hammelserum (Wiederholungsversuch)

Schichthöhe Fraktion	Einwirkungszeit in Stunden							
	1		2		3		4	
	ÄO	LK	ÄO	LK	ÄO	LK	ÄO	LK
Alb.	53,8	51,2	53,7	51,5	50,8	51,5	54,7	50,8
α_1	6,6	5,7	5,8	6,2	6,1	5,2	5,1	4,5
α_2	10,4	12,0	11,1	11,1	11,0	12,1	9,7	13,4
β	8,3	7,4	7,6	7,5	6,7	8,5	8,5	8,0
γ	20,9	23,7	21,8	23,7	25,4	22,7	22,0	23,3
							30,0	22,5

Zeichenerklärung: siehe Tab. 5 a

Tabelle 7a:

Differenzen zwischen den mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bzw. mit CO_2 allein beeinflussten Serumproben im Verhältnis zu den entsprechenden Luftkontrollen (Umrechnung der Werte von Tab. 5a u. 5b)

Versuchsdaten: Temp.: 37°C ; kein Überdruck, d.h. also Aufbewahrung der Serumproben in Plastikbeuteln

Schichthöhe Fraktion

Einwirkungszeiten

	30 min	60 min	90 min	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	6 Std.	24 Std.
Alb.	+ 15,2 (+ 1,9)	0 (+ 4,6)	- 2,8 (- 4,7)	+ 0,4 (- 3,5)	+ 2,4 (0)	+ 2,4 (+ 0,4)	+ 5,4 (- 1,2)	- 0,7 (+ 0,4)	+ 12,5 (+ 1,9)
α_1	- 0,5 (- 1,0)	- 1,1 (- 0,6)	- 3,4 (- 1,3)	+ 1,6 (+ 0,2)	+ 0,6 (- 2,0)	+ 0,1 (+ 0,4)	----- (0)	- 1,1 (=====)	=====
α_2	- 4,4 (- 1,8)	+ 0,2 (- 1,8)	- 0,2 (+ 1,7)	- 0,1 (+ 0,4)	- 0,7 (+ 0,3)	+ 0,7 (+ 0,7)	- 1,9 (- 0,3)	- 1,8 (0)	- 6,7 (- 0,7)
β	0 (- 0,6)	+ 0,9 (- 1,1)	----- (+ 3,9)	- 0,2 (0)	----- (- 0,7)	=====	----- (- 0,2)	=====	=====
γ	- 10,3 (+ 1,5)	0 (- 1,1)	+ 15,6 (+ 00,4)	- 1,7 (+ 2,9)	+ 4,4 (+ 2,4)	- 3,2 (- 0,6)	+ 5,4 (+ 1,7)	+ 3,6 (+ 8,0)	- 5,8 (- 2,0)
Alb.	+ 8,5 (- 2,1)	- 1,4 (+ 0,3)	+ 11,4 (+ 1,9)	- 2,6 (- 0,6)	+ 1,6 (- 1,0)	+ 0,8 (+ 0,9)	- 2,0 (+ 0,9)	+ 1,6 (+ 1,8)	+ 16,5 (+ 2,8)
α_1	+ 1,7 (0)	+ 0,3 (+ 1,3)	+ 2,4 (- 1,3)	+ 1,7 (+ 0,2)	- 0,1 (- 1,5)	+ 0,1 (+ 0,6)	+ 2,0 (+ 0,2)	- 1,6 $\emptyset$	=====
α_2	- 4,6 (- 0,8)	+ 1,2 (- 1,9)	- 6,6 (- 0,6)	+ 0,7 (- 0,6)	0 (+ 2,3)	+ 0,8 (- 1,0)	+ 0,3 (- 0,1)	- 1,9 (- 4,0)	- 11,5 (- 0,9)

1,0 cm

δ		(+ 2,6)	(+ 2,1)	(- 0,6)	(+ 1,1)	(+ 1,7)	(+ 0,4)	(- 0,7)	(+ 0,9)	(- 2,1)
Alb.		+ 10,8	- 3,6	- 5,1	+ 6,1	+ 4,9	+ 1,0	+ 0,2	+ 2,9	+ 14,1
		(+ 0,1)	(+ 3,0)	(+ 1,1)	(+ 1,3)	(- 2,8)	(- 0,9)	(- 2,5)	(+ 2,1)	(+ 3,4)
α_1		+ 0,2	- 0,8	- 0,7	+ 1,4	+ 0,2	+ 0,1	+ 1,5	- 1,1	=====
		(+ 0,3)	(- 0,2)	(- 0,9)	(- 0,1)	(- 0,7)	(- 0,6)	(+ 0,3)	$\emptyset$	(- 1,0)
α_2		- 4,3	+ 0,8	- 1,3	- 0,9	- 1,0	- 0,1	- 2,4	- 2,5	- 8,3
		(- 3,6)	(- 1,2)	(+ 0,2)	(+ 0,4)	(+ 2,4)	(- 0,8)	(+ 1,2)	(- 3,1)	(- 2,1)
β		- 2,5	+ 0,7	- 4,0	- 0,8	-----	=====	+ 0,7	=====	=====
		(- 0,3)	(- 0,7)	(- 0,3)	(- 1,5)	(- 0,3)	(- 1,1)	(- 1,1)	(- 2,5)	(+ 1,0)
γ		- 4,2	+ 2,9	+ 11,1	- 5,8	+ 2,6	- 1,0	0	+ 0,7	- 5,8
		(+ 3,5)	(- 0,9)	(- 0,1)	(- 0,1)	(+ 1,4)	(+ 3,4)	(+ 2,1)	(+ 0,9)	(- 1,3)

Zeichenerklärung: () = CO₂-Kontrolle; ----- = es fehlt d. Serumfrakt. i. Versuch m. $\dot{A}O/CO_2$;

=== = es fehlt d. Serumfrakt. i. Vers. mit $\dot{A}O/CO_2$ u. i. d. dazugehörigen Luftkontrolle;

$\emptyset$ = es fehlt die Serumfraktion i. d. Luftkontrolle allein.

Tabelle 7b: Differenzen zwischen den mit $\dot{A}O/CO_2$ beeinflussten Serumproben im Verhältnis zu den entsprechenden Luftkontrollen (Umrechnung der Werte v. Tab. 6 - Wiederholungsversuch)

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeit in Stunden			
		1	2	3	4
	Alb.	+ 2,6	+ 2,2	- 0,7	+ 3,9
		+ 0,9	- 0,4	+ 0,9	+ 0,6
0,5 cm	α_1	- 1,6	0	- 1,1	- 3,7
	α_2	+ 0,9	+ 0,1	- 1,8	+ 0,5
	β	- 2,8	- 1,9	+ 2,7	- 1,3
	γ				+ 7,5

Aus Tab. 5 - 7 ist zu entnehmen, daß im allgemeinen die Streuung der Werte, ausgedrückt als Differenz zwischen Versuch und der entsprechenden Luftkontrolle, nicht sehr groß ist. Eine größere Variabilität findet sich bei den Relativwerten für Albumin und γ -Globulin. Dabei handelt es sich aber nicht um eine Erscheinung in Abhängigkeit von der Dauer der Serumbeeinflussung, so daß diese unterschiedlichen Werte als Streuung aufgefaßt werden können. In diesem Zusammenhang sei nochmals darauf verwiesen, daß bekanntlich die Werte von Tier zu Tier sehr unterschiedlich sind. Das ist von besonderer Bedeutung, da aus technischen Gründen nicht alle Versuche zur gleichen Zeit durchgeführt werden konnten.

Die Schichthöhe der Serumprobe spielt bei den verwendeten Abstufungen offensichtlich keine besonders große Rolle.

Am empfindlichsten erwiesen sich die Fraktionen für α_1 - und β -Globulin. Die α_1 -Fraktion fehlte im $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ -Versuch bei einer Schichthöhe des Serums von 0,5 cm ab einer Einwirkungszeit von 5 Stunden. Dies war nicht der Fall bei den Schichthöhen von 1,0 und 2,0 cm. Nach einer Einwirkungszeit von 24 Std. fehlte diese Fraktion bei allen $\text{ÄO}:\text{CO}_2$ -Versuchen, gleichzeitig aber auch bei der entsprechenden Luftkontrolle.

Die β -Globulin-Fraktion fiel bei einer Schichthöhe von 0,5 cm und 1,0 cm im $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ -Versuch schon ab einer Einwirkungszeit von 90 min aus und bei einer Schichthöhe von 2 cm nach 3 Std. Zu späteren Zeiten fehlte die Fraktion auch bei der Luftkontrolle.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit dem Effekt von CO_2 unter sonst gleichen Bedingungen, dann sind diese Veränderungen offensichtlich nicht so ausgeprägt. Bei Wiederholung der Versuche mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ in einer Serumschichthöhe von 0,5 cm ergab sich wiederum, daß bei längerer Einwirkungszeit (in diesem Falle 8 Std.) die α_1 und β -Fraktionen ausfielen. Die Werte für die Albumin- und γ -Globulin-Fraktionen zeigen wieder, daß hier keine wesentlichen Veränderungen eingetreten sind. Dies ist deswegen hier im Wiederholungsversuch deutlicher zu sehen, da die Streuung kleiner ist, denn alle Versuche der Wiederholung wurden mit dem Serum desselben Tieres, wenn auch aus 3 Blutentnahmen durchgeführt.

2) In dieser Versuchsserie wurde der Einfluß von $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bzw. von CO_2 allein bei 37°C auf Hammelserum mit verschiedener Schichthöhe im Druckgerät bei $5,5 \text{ kg/cm}^2$ untersucht. Ergebnisse siehe Tab. 8a und 8b, Tab. 9 - 11.

Tabelle 8a: Einfluß von $\dot{A}O/CO_2$ auf Hammelserum bei einem Druck von $5,5 \text{ kg/cm}^2$ und bei der Temperatur von 37°C

Schichthöhe Fraktion		Einwirkungszeiten in Stunden							
		1		2		3		4	
		$\dot{A}O/CO_2$	LK	$\dot{A}O/CO_2$	LK	$\dot{A}O/CO_2$	LK	$\dot{A}O/CO_2$	LK
0,5 cm	Alb.	52,0	50,9	70,2	66,4	58,5	52,5	53,5	54,2
	α_1	4,1	5,4	2,4	2,5		3,0		2,6
	α_2	12,6	10,6	6,1	7,7	10,1	10,1	7,3	12,5
	β	5,9	8,5		7,4		6,3		5,5
	γ	25,4	24,6	21,3	16,0	31,4	28,4	39,2	25,2
		(12,1)							
		D							
1,0 cm	Alb.	53,1		65,7		59,7		49,2	
	α_1	3,6		2,1					
	α_2	11,7		7,8		8,9		11,0	
	β								
	γ	31,6		24,4		31,4		39,8	
2,0 cm	Alb.	50,7		55,3		48,0		53,7	
	α_1	5,6		1,6		5,0		5,9	
	α_2	12,2		5,1		11,2		9,8	
	β	6,6						5,8	
	γ	24,9		38,0		35,8		24,8	

Zeichenerklärung: $\dot{A}O/CO_2$ = Versuchsdaten mit $\dot{A}O/CO_2$ -Belastung; LK = Luftkontrolle; D = siehe S. 39

Tabelle 8b: Einfluß von CO₂ bei einer Temperatur von 37°C und einem Druck von 5,5 kg/cm² auf Hammelserum

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden							
		1		2		3		4	
		CO ₂	LK	CO ₂	LK	CO ₂	LK	CO ₂	LK
0,5 cm	Alb.	52,4	52,6	61,6	68,1	64,6	62,9	51,6	50,6
	α_1			2,9	1,7	3,3	2,4	4,6	4,5
	α_2	16,0	14,3	9,8	7,6	9,1	8,7	12,4	12,1
	β			7,8	6,0	6,2	6,9	6,5	5,7
	γ	31,6	33,1	17,9	16,6	16,8	19,1	24,9	27,1
1,0 cm	Alb.	52,0		66,0		57,6		47,6	
	α_1			3,4		4,6		3,6	
	α_2	16,2		8,6		9,9		11,7	
	β			6,7		8,2		8,3	
	γ	31,8		15,3		19,7		28,8	
2,0 cm	Alb.	50,2		62,0		63,9		52,7	
	α_1			2,5		2,1		3,7	
	α_2	16,2		9,5		9,2		10,7	
	β			7,6		6,7		5,9	
	γ	33,6		18,4		18,1		27,0	

Zeichenerklärung: CO₂ = Versuchswerte mit CO₂-Belastung
LK = Luftkontrolle

Tabelle 10: Differenzen zwischen den Versuchswerten nach Beeinflussung mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bzw. CO_2 unter Druck von 5,5 kg/cm² bei 37°C zur jeweiligen Luftkontrolle (Umrechnung von Tab. 82 und 8b)

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden				
		1	2	3	4	8
0,5 cm	Alb.	+ 1,1 (- 0,2)	+ 3,8 (- 6,5)	+ 6,3 (+ 1,7)	- 0,7 (+ 1,0)	- 2,6 (+ 7,1)
	α_1	- 1,3 (=====)	- 0,1 (+ 1,2)	----- (+ 0,9)	----- (+ 0,1)	----- (- 1,3)
	α_2	+ 2,0 (+ 1,7)	- 1,6 (+ 2,2)	0 (+ 0,4)	- 5,2 (+ 0,3)	+ 13,8 (- 2,4)
	β	- 2,6 (=====)	----- (+ 1,8)	----- (- 0,7)	----- (+ 0,8)	----- (+ 0,1)
	γ	+ 0,8 (- 1,5)	+ 5,3 (+ 1,3)	+ 3,0 (- 2,3)	+ 14,0 (- 2,2)	- 13,2 + 12,2 D (- 3,5)
1,0 cm	Alb.	+ 2,2 (- 0,6)	- 0,7 (- 2,1)	+ 7,5 (- 5,3)	- 5,0 (- 3,0)	+ 1,4 (+ 1,6)
	α_1	- 1,8 (=====)	- 0,4 (+ 1,7)	----- (+ 2,2)	----- (- 0,9)	+ 0,3 (- 0,8)
	α_2	+ 1,1 (+ 1,9)	+ 0,1 (+ 1,0)	- 1,2 (+ 1,2)	- 1,5 (- 0,4)	----- (- 0,3)
	β	-----	-----	-----	-----	-----

2,0 cm	Alb.	- 0,2 (- 2,4)	- 11,1 (- 6,1)	- 4,2 (+ 1,0)	- 0,5 (+ 2,1)	+ 3,8 (+ 2,7)
	α_1	+ 0,2 (=====)	- 0,9 (+ 0,8)	+ 2,0 (- 0,3)	+ 3,3 (- 0,8)	----- (- 1,1)
	α_2	+ 1,6 (+ 1,9)	- 2,6 (+ 1,9)	+ 1,1 (+ 0,5)	- 2,7 (- 1,4)	- 1,2 (- 0,6)
	β	- 1,9 (=====)	----- (+ 1,6)	----- (- 0,2)	+ 0,3 (+ 0,2)	----- (+ 1,8)
	γ	+ 0,3 (+ 0,5)	+ 22,0 (+ 1,8)	+ 7,4 (- 1,0)	- 0,4 (- 0,1)	+ 7,6 (- 2,8)

Zeichenerklärung: siehe Tab. 7a

Tabelle 11: Differenzen zwischen Versuchswerten nach Beeinflussung mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bei 37°C unter einem Druck von 5,5 kg/cm² zu den entspr. Luftkontrollen (Umrechn. von Tab. 9, Wiederholungsvers.)

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden				
		1	2	3	4	8
0,5 cm	Alb.	+ 2,1	+ 5,3	+ 4,5	+ 5,6	- 1,0
	α_1	- 0,1	-----	-----	-----	-----
	α_2	- 0,1	+ 1,3	- 1,4	+ 1,0	+ 2,2
	β	- 3,4	-----	-----	-----	-----
	γ	+ 1,5	+ 9,9	+ 11,0	+ 7,6	+ 0,9 + 10,4 D

Aus Tab. 8 - 11 ist zu entnehmen, daß der oben schon beschriebene Effekt von $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ unter Druck noch deutlicher ist. Die α_1 - und β -Globulin-Frak-tionen fehlen schon ab 1 Std. Allerdings sind die einzelnen Zeitwerte nicht immer regelmäßig. Es fällt beispielsweise auf, daß beim 1 Std.-Wert die α_1 - und β -Globulin-Frak-tionen auch in der CO_2 -Kontrolle fehlen im Gegen-satz zu den Werten bei längeren Einwirkungszeiten (Tab.10). Dies ist darauf zurückzuführen, daß für die Werte, die in Tab.10 der Vertikalen angeord-net sind, mit demselben Serum gemacht wurden, während für die anderen (vertikalen) Versuchsreihen neue Serumproben benutzt wurden. Demnach ist die Empfindlichkeit von diesen beiden Fraktionen durchweg erkenntlich.

Es besteht ein deutlicher Unterschied zwischen dem Effekt von $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ und CO_2 allein (siehe Tab.10, 2 - 8 Std.-Wert).

Alle anderen Werte zeigen im Verhältnis zu den jeweiligen Luftkontrollen weder mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ noch mit CO_2 allein wesentliche Verschiebungen (Tab.10).

Damit vergleichbar ist das Ergebnis eines Wiederholungsversuchs mit dem Se-rum von ein und demselben Tier (Tab.11).

Ergänzend ist zu erwähnen, daß die Luftkontrollen nicht im Druckgefäß auf-bewahrt worden sind, da es nicht möglich war, mit einem Gerät Kontrolle und Versuch gleichzeitig durchzuführen.

3) In dieser Versuchsreihe wurden die unter 1) beschriebenen Versuche, also ohne Verwendung von Überdruck, wiederholt, jedoch bei einer Versuchstem-peratur von nur 30°C . Die Ergebnisse sind in Tab.12a und 12b sowie Tab.13 wiedergegeben.

Tabelle 12a: Einfluß von $\dot{A}O/CO_2$ bei 30°C auf Hammelserum

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten					
		30 min	60 min	90 min	2 ^h	3 ^h	
		ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	
0,5 cm	Alb.	48,1	47,8	59,0	64,2	56,1	
	α ₁	(4,9)	(4,3)	(3,3)	5,3	(4,6)	
	α ₂	14,7	10,2	8,8	7,3	9,7	
	β	(11,1)	(11,1)	(11,9)	7,8	(13,7)	
	γ	(35,9)	(8,4)	(9,5)	7,8	(6,5)	
		37,2	39,1	16,2	15,4	21,5	
1,0 cm	Alb.	44,8	48,0	57,6	55,4	56,5	
	α ₁	4,5	4,6	4,0	5,1	5,2	
	α ₂	10,1	9,9	8,3	10,0	9,1	
	β	8,9		8,8	11,0	7,8	
	γ	31,7	37,5	21,3	18,5	21,4	
2,0 cm	Alb.	53,5	46,7	48,8	53,2	56,5	
	α ₁	4,9	4,7	3,6	5,0	5,2	
	α ₂	12,8	11,5	12,8	10,3	8,4	
	β			5,9	10,8		
	γ	28,8	37,1	28,9	20,7	29,9	

(Fortsetzung der Tabelle 12a auf der nächsten Seite)

(Fortsetzung der Tabelle 12a)

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden				
		4	5	6	24	
		ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	ÄO/CO ₂ (LK)	(LK)
0,5 cm	Alb.	56,7	55,6	53,4	53,4	(46,0)
	α_1	3,3	3,9	(4,5)	(4,1)	(3,3)
	α_2	9,9	9,6	(10,9)	13,2	(14,9)
	β		9,0	(6,5)	33,4	(8,0)
	γ	30,1	21,9	(25,0)	31,1	(27,8)
1,0 cm	Alb.	59,4	54,5	52,3	53,9	
	α_1	2,7	4,0	6,2		
	α_2	11,2	11,7	12,1	13,5	
	β		7,8			
	γ	26,7	22,0	29,4	32,6	
2,0 cm	Alb.	56,4	57,3	50,7	55,9	
	α_1	3,5	3,4	2,8		
	α_2	10,7	8,4	13,6	13,8	
	β	6,2				
	γ	23,3	30,9	32,9	30,3	

Tabelle 12b: Einfluß von CO₂ auf das elektrophoretische Serumweißbild bei 30°C

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten									
		30 min	60 min	90 min	2h	3h					
		CO ₂ (LK)	CO ₂ (LK)	CO ₂ (LK)	CO ₂ (LK)	CO ₂ (LK)					
0,5 cm	Alb.	62,0	(65,6)	58,5	(61,5)	54,8	(57,7)	57,1	(57,1)	49,7	(49,9)
	α ₁	4,0	(3,9)	4,0	(4,3)	4,7	(3,5)	5,5	(4,3)	3,4	(4,5)
	α ₂	7,5	(7,2)	8,2	(7,4)	11,3	(10,6)	10,6	(10,2)	10,9	(10,7)
	β	6,1	(5,7)	8,7	(5,9)	6,8	(8,1)	6,0	(8,5)	6,0	(8,7)
	γ	20,4	(17,6)	20,6	(20,9)	22,4	(20,1)	20,8	(19,9)	30,0	(26,2)
1,0 cm	Alb.	65,7		59,5		57,2		57,0		47,9	
	α ₁	2,9		3,8		2,9		4,0		4,6	
	α ₂	7,7		8,7		11,5		10,2		10,5	
	β	6,9		8,2		7,3		7,6		9,1	
	γ	16,8		19,8		21,1		21,2		27,9	
2,0 cm	Alb.	64,0		58,7		56,9		59,3		50,5	
	α ₁	3,0		5,3		3,6		4,2		4,3	
	α ₂	7,8		9,6		11,3		9,7		10,3	
	β	7,3		8,7		8,7		6,5		8,7	
	γ	17,9		17,7		19,5		20,3		26,2	

(Fortsetzung der Tabelle 12b auf der nächsten Seite)

Aus Tab. 12 - 13 ist zu entnehmen, daß auch hier wiederum die α_1 - und β -Globulinfraktionen offensichtlich am empfindlichsten sind. Prinzipiell unterscheidet sich das Ergebnis nicht von dem entsprechenden bei 37°C (Versuchsserie 1, siehe Tab. 7 a und b).

4) Diese Versuchsserie entspricht der Versuchsserie 2, jedoch bei der Versuchstemperatur von nur 30°C. Die Serumproben wurden also mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ im Druckgerät behandelt. (Ergebnisse siehe Tab. 14 a und b, sowie Tab. 15).

Tabelle 13: Differenzen zwischen den mit $\Delta O/CO_2$ bzw. mit CO_2 allein beeinflussten Serumproben im Verhältnis zu den entsprechenden Luftkontrollen (Umrechnung von Tab. 12 a und 12b)

Schichthöhe Fraktion		Einwirkungszeiten								
		30 min	60 min	90 min	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	6 Std.	24 Std.
0,5 cm	Alb.	0 (- 3,6)	+ 1,0 (- 3,0)	+ 3,5 (- 2,9)	+ 5,1 (0)	+ 0,1 (- 0,2)	- 0,4 (+ 2,5)	+ 2,5 (+ 3,9)	+ 0,8 (- 5,4)	+ 7,4 (- 0,2)
	α_1	----- (+ 0,1)	- 1,4 (- 0,3)	+ 1,5 (+ 1,2)	+ 0,7 (+ 1,2)	+ 1,4 (- 1,1)	- 3,0 (- 0,3)	- 0,6 (- 0,6)	----- (+ 0,6)	----- (+ 0,6)
	α_2	+ 3,6 (+ 0,3)	- 0,9 (+ 0,8)	- 3,1 (+ 0,7)	- 3,5 (+ 0,4)	- 4,0 (+ 0,2)	+ 0,3 (+ 1,0)	- 1,3 (- 0,3)	+ 0,6 (+ 0,8)	+ 0,6 (- 2,1)
	β	=====	-----	+ 1,7 (- 1,3)	- 0,2 (- 2,5)	+ 1,0 (- 2,7)	----- (0)	+ 2,5 (- 0,4)	----- (+ 1,3)	----- (=====)
	γ	+ 1,3 (+ 2,8)	+ 9,7 (- 0,3)	- 3,6 (+ 2,3)	- 2,1 (+ 0,9)	+ 1,5 (+ 3,8)	+ 13,5 (- 3,2)	- 3,1 (- 2,6)	+ 8,9 (+ 1,8)	+ 3,3 (+ 2,6)
	Alb.	- 3,3 (+ 0,1)	+ 1,2 (- 2,0)	+ 2,1 (- 0,5)	- 3,7 (- 0,1)	+ 0,5 (- 2,0)	+ 2,3 (+ 4,2)	+ 1,4 (- 1,8)	- 0,3 (- 3,0)	+ 7,9 (- 0,4)
1,0 cm	α_1	- 0,4 (- 1,0)	+ 0,3 (- 0,5)	+ 0,7 (- 0,6)	+ 0,5 (- 0,3)	+ 1,4 (+ 0,1)	- 3,6 (+ 0,2)	- 0,5 (- 0,1)	+ 2,1 (- 0,8)	----- (- 0,2)
	α_2	- 1,0 (+ 0,5)	- 1,2 (+ 1,3)	- 3,6 (+ 0,9)	- 0,8 (0)	- 4,6 (- 0,2)	+ 1,6 (- 0,3)	+ 0,8 (- 1,1)	- 0,5 (- 0,4)	- 1,4 (- 0,8)
	β	Ø	-----	- 0,7	+ 3,0	+ 1,3	-----	+ 1,3	-----	-----

ϕ		(- 0, 8)	(- 1, 1)	(+ 1, 0)	(+ 1, 3)	(+ 1, 7)	(- 5, 6)	(+ 1, 3)	(+ 4, 0)	(+ 1, 4)
Alb.		+ 5, 4 (- 1, 6)	- 0, 1 (- 2, 8)	- 6, 7 (- 0, 8)	- 5, 9 (+ 2, 2)	+ 0, 5 (+ 0, 6)	- 0, 7 (+ 0, 8)	+ 4, 2 (- 1, 4)	- 1, 9 (+ 0, 8)	+ 9, 9 (- 0, 1)
α_1		0 (- 0, 9)	+ 0, 4 (+ 1, 0)	+ 0, 3 (+ 0, 1)	+ 0, 4 (- 0, 1)	+ 1, 4 (- 0, 2)	- 2, 8 (0)	- 1, 1 (+ 0, 9)	- 1, 3 (- 1, 8)	----- (- 0, 1)
α_2		+ 1, 7 (+ 0, 6)	+ 0, 4 (+ 2, 2)	+ 0, 9 (+ 0, 7)	- 0, 5 (- 0, 5)	- 5, 3 (- 0, 4)	+ 1, 1 (- 0, 4)	- 2, 5 (0)	+ 1, 0 (+ 0, 4)	- 1, 1 (- 1, 9)
β		=====	-----	- 3, 6 (+ 0, 6)	+ 2, 8 (- 2, 0)	-----	- 4, 2 (+ 1, 0)	-----	-----	-----
		(+ 1, 6)	(+ 2, 8)	(+ 0, 6)	(- 2, 0)	(0)	(+ 1, 0)	(+ 0, 9)	(- 0, 5)	(=====)
γ		- 7, 1 (+ 0, 3)	+ 7, 7 (- 3, 2)	+ 9, 1 (- 0, 6)	+ 3, 2 (+ 0, 4)	+ 9, 9 (0)	+ 6, 6 (- 1, 4)	+ 5, 9 (- 0, 4)	+ 8, 4 (+ 1, 1)	+ 2, 5 (+ 2, 1)

Zeichenerklärung siehe Tab. 7 a

Tabelle 14a: Einfluß von $\dot{A}O/CO_2$ auf Hammelserum bei einem Druck von $5,5 \text{ kg/cm}^2$ und der Temperatur von 30°C

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden					
		1	3	4	8		
		$\dot{A}O/CO_2$	LK	$\dot{A}O/CO_2$	LK	$\dot{A}O/CO_2$	LK
0,5 cm	Alb.	47,7	44,9	68,0	62,3	58,2	55,2
	α_1	4,1	3,9		2,9	2,2	3,5
	α_2	10,8	12,0	7,1	8,6	9,7	11,9
	β	10,0	7,6		7,5		11,2
	γ	27,4	31,6	24,9	18,7	29,8	18,2
		D					
1,0 cm	Alb.	48,0		69,5		59,6	
	α_1	3,9				3,5	
	α_2	12,6		8,3		8,1	
	β					8,8	
	γ	35,5		22,2		20,0	
		D					
2,0 cm	Alb.	45,2		64,3		56,0	
	α_1	3,1		5,4		3,7	
	α_2	12,4		7,3		8,8	
	β	7,9				8,4	
	γ	31,4		23,0		23,1	
		D					
						39,0	
						(4,1)	
						42,9	
						8,7	
						9,5	
						38,9	

Tabelle 14b: Einfluß von CO₂ bei der Temperatur von 30°C und dem Druck von 5,5 kg/cm² auf Hammeiserum

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden							
		1	3	4	8	CO ₂	(LK)	CO ₂	(LK)
0,5 cm	Alb.	51,1	(54,8)	66,0	(65,3)	69,2	(70,7)	45,7	(52,4)
	α_1	4,3	(3,1)	2,2	(3,3)	2,9	(2,4)	4,5	(2,7)
	α_2	10,8	(9,9)	8,1	(7,3)	7,3	(6,8)	11,6	(10,5)
	β		(6,0)	7,6	(8,0)	6,8	(6,5)		
	γ	33,8	(26,2)	16,1	(16,1)	13,8	(13,6)	38,2	(34,4)
1,0 cm	Alb.	48,1		72,0		71,7		52,8	
	α_1	3,8		1,2		3,1		2,5	
	α_2	10,7		5,9		6,9		11,0	
	β			6,7		5,7			
	γ	37,4		14,2		12,6		33,7	
2,0 cm	Alb.	54,0		70,5		68,8		53,5	
	1	3,0		1,2		3,3		2,8	
	2	9,2		6,3		6,5		9,7	
	β			7,1		4,7			
		33,8		14,9		16,7		34,0	

Tabelle 15: Differenzen zwischen den unter Druck mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ bzw. mit CO_2 allein beeinflussten Serumproben im Verhältnis zu den entsprechenden Luftkontrollen (Umrechnung von Tab. 14 a und b)

Versuchsdaten: 30°C

5,5 kg/cm² Überdruck

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten in Stunden			
		1	3	4	8
0,5 cm	Alb.	+ 2,8 (- 3,7)	+ 5,7 (+ 0,7)	+ 3,1 (- 1,5)	+ 3,7 (- 6,7)
	α_1	+ 0,2 (+ 1,2)	----- (- 1,1)	- 1,3 (+ 0,5)	----- (+ 1,8)
	α_2	- 1,2 (+ 0,9)	- 1,5 (+ 0,8)	- 2,2 (+ 0,5)	- 7,5 (+ 1,1)
	β	+ 2,4 (-----)	----- (- 0,4)	----- (+ 0,3)	----- (=====)
	γ	- 4,2 (+ 7,6)	+ 6,2 (0)	+11,6 (+ 0,2)	- 0,9 +13,0 D (+ 3,8)
	Alb.	+ 3,1 (- 6,7)	+ 6,2 (+ 6,7)	+ 4,4 (+ 1,0)	+ 1,9 (+ 0,4)
	α_1	0 (- 0,7)	----- (- 2,1)	0 (+ 0,7)	----- (- 0,2)

1,0 cm		(+ 0,8)	(- 1,4)	+ 0,1	(+ 0,5)
	β	----- (-----)	----- (- 1,3)	- 2,4 (- 0,8)	----- (=====)
	γ	+ 3,9 (+11,2)	+ 4,5 (- 1,9)	+ 1,8 (- 1,0)	+ 2,2 + 4,1 D (- 0,7)
	Alb.	+ 0,3 (- 0,8)	+ 2,0 (+ 5,2)	+ 0,8 (- 1,9)	- 6,5 (+ 1,1)
	α_1	- 0,8 (- 0,1)	+ 2,5 (- 2,1)	+ 0,2 (+ 0,9)	----- (+ 0,1)
	α_2	+ 0,4 (- 0,7)	- 1,3 (- 1,0)	- 3,1 (- 0,3)	- 1,8 (- 0,8)
2,0 cm	β	+ 0,3 (-----)	----- (- 0,9)	- 2,8 (- 1,8)	+ 3,9 (=====)
	γ	- 0,2 (+ 7,6)	+ 4,3 (- 1,2)	+ 4,9 (+ 3,1)	+ 7,1 (- 0,4)

Zeichenerklärung siehe Tab. 7 a

Aus Tab.14 a und b sowie Tab.15 ist wiederum zu entnehmen, daß die α_1 - und β -Globulin-Fractionen am empfindlichsten sind. Auch in den übrigen Resultaten entsprechen die Ergebnisse prinzipiell den Versuchen bei 37°C, die in Tab.10 wiedergegeben sind.

5) In dieser Versuchsreihe wurden die Serumproben einer verhältnismäßig niederen Temperatur von 20 - 23°C (Zimmertemperatur) ausgesetzt. Die Beeinflussung mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ erfolgte in Plastikbeuteln, also praktisch ohne Druck. Die Ergebnisse sind in Tab.16 und 17 wiedergegeben.

Tabelle 16: Einfluß von $\dot{A}O/CO_2$ bei 20 - 23°C (Zimmertemperatur) auf Hammelserum

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten			
		6 ^h		6.30 ^h	
		$\dot{A}O/CO_2$	(LK)	$\dot{A}O/CO_2$	(LK)
0,5 cm	Alb.	50,3	(51,2)	59,0	(51,6)
	α_1	3,4	(4,4)	2,8	(4,0)
	α_2	11,6	(11,5)	13,0	(14,8)
	β		(7,8)	7,6	(9,0)
	γ	34,7	(25,1)	17,6	(20,6)
1,0 cm	Alb.	53,7		57,5	
	α_1	3,3		3,9	
	α_2	11,0		10,3	
	β			7,8	
	γ	32,0		20,5	
2,0 cm	Alb.	53,2		60,6	
	α_1	4,1		3,3	
	α_2	9,5		10,1	
	β	8,0		7,0	
	γ	25,2		19,0	

Tabelle 17: Differenzen zwischen den mit $\ddot{A}O/CO_2$ beeinflussten Serumproben zu den entsprechenden Luftkontrollen
(Umrechnung von Tabelle 16)

Versuchsdaten: 20 - 23°C
kein Überdruck

Schichthöhe	Fraktion	Einwirkungszeiten		
		3 Std.	6 Std. 30 min	24 Std.
0,5 cm	Alb.	- 0,9	+ 7,4	+ 4,6
	α_1	- 1,0	- 1,2	-----
	α_2	+ 0,1	- 1,8	+ 0,5
	β	-----	- 1,4	-----
	γ	+ 9,6	- 3,0	+ 5,3
1,0 cm	Alb.	+ 2,5	+ 5,9	+ 7,6
	α_1	- 1,1	- 0,1	-----
	α_2	- 0,5	- 4,5	- 0,8
	β	-----	- 1,2	-----
	γ	+ 6,9	- 0,1	+ 4,2
2,0 cm	Alb.	+ 2,0	+ 9,0	+ 4,1
	α_1	- 0,3	- 0,7	- 2,6
	α_2	- 2,0	- 4,7	- 2,4
	β	+ 0,2	- 2,0	-----
	γ	+ 0,1	- 1,6	+ 6,0

Aus Tab. 16 und 17 ist wiederum zu entnehmen, daß die α_1 - und β -Globulin-Fractionen empfindlicher sind, sonst treten keine wesentlichen Veränderungen gegenüber der Luftkontrolle auf. In dieser Versuchsserie wurde auf eine Anordnung mit CO_2 allein verzichtet, da nach den seither durchgeführten Untersuchungsreihen bei der hier gewählten verhältnismäßig niederen Temperatur nicht mit einer wesentlichen Beeinflussung zu rechnen war.

DISKUSSION

Die Versuche ergaben übereinstimmend, daß die α_1 - und β -Globulin-Frak-tionen auf $\ddot{A}O$ am empfindlichsten reagierten. Bei einer Auswertung der ein-zelnen Daten durch einen Vergleich der Versuchswerte mit der entsprechenden Luftkontrolle ergaben sich sonst keine wesentlichen Unterschiede.

Man könnte die Frage stellen, weshalb nicht die nach Beeinflussung der Se-rumproben durch $\ddot{A}O/CO_2$ erhaltenen Daten denen gegenübergestellt wurden, die nach Beeinflussung mit CO_2 allein ermittelt worden sind. Nur in diesem Fall wäre durch die Unterscheidung von Versuch und Kontrolle in einem Fak-tor eine direkte Aussage über den Effekt von $\ddot{A}O$ allein möglich. Auf eine solche Gegenüberstellung mußte aber aus zwei Gründen verzichtet werden. Die Gegenüberstellung des $\ddot{A}O/CO_2$ -Versuches zu einer Luftkontrolle war im Hinblick auf die Problemstellung erforderlich. Es sollte untersucht werden, ob sich die Anwendung von $\ddot{A}O/CO_2$ zur Desinfektion von Fellen und Häuten eignet. Dieses Material ist wegen des Kollagens außerordentlich empfindlich. Es hatte sich gezeigt, daß man offensichtlich dieses Material mit $\ddot{A}O/CO_2$ von Milzbrandbazillensporen sanieren kann, ohne daß mit einer Beeinträchti-gung der späteren Lederqualität zu rechnen ist (Gillissen und Scholz). Es war aber noch abzuklären, ob und inwieweit Eiweiß mit $\ddot{A}O$ belastet wer-den kann. Dies sollte zunächst mit Serumeiweiß und der papierelektrophore-tischen Auftrennung der einzelnen Fraktionen untersucht werden. Deswegen wurde der Effekt von $\ddot{A}O/CO_2$ der Luftkontrolle gegenübergestellt. In Paral-leversuchen wurde dann der Effekt von CO_2 allein ebenfalls im Verhältnis zu einer Luftkontrolle untersucht.

In einigen Fällen, d.h. bei den Versuchen im Druckgerät und einer länge-ren Einwirkungszeit gibt diese Art der Auswertung u. U. Anlaß zu Fehldeutun-gen. Betrachtet man das Elektropherogramm dieser Versuche, dann ist duet-lich zu erkennen, daß ein Teil des aufgegebenen Serums an der Auftrags-stelle liegen blieb. Bei der Auswertung wurde dieser Anteil besonders errech-net und mit D bezeichnet. Die elektrophoretisch ermittelten Daten sind nur Relationswerte, so daß man eine, wenn auch nicht gewanderte Fraktion nicht überschlagen kann. Deswegen wurde in diesen Fällen bei den oben beschrie-benen Tabellen ein entsprechender Vermerk angebracht. Grundsätzlich ist zu sagen, daß diese Erscheinung nur im Druckgerät und bei sehr langen Ein-wirkungszeiten auftrat.

In Verbindung damit war auch makroskopisch zu sehen, daß in diesen Fäl-len das Serum trüb wurde. Bei der größten Schichthöhe von 2,0 cm war die-

se Trübung nur im oberen Abschnitt der Flüssigkeitssäule festzustellen. Vor dem Auftragen des Serums auf den Elektrophorese-Streifen wurde das Serum gemischt, danach mußte die Menge des nicht mehr elektrophoretisch wandernden Anteils mit zunehmender Flüssigkeitshöhe abnehmen. Dies war auch tatsächlich der Fall. Es war lediglich bei einer Flüssigkeitshöhe von 0,5 und 1,0 cm ein solcher nicht wandernder Anteil festzustellen (s. Tab. 8a, 9, 14).

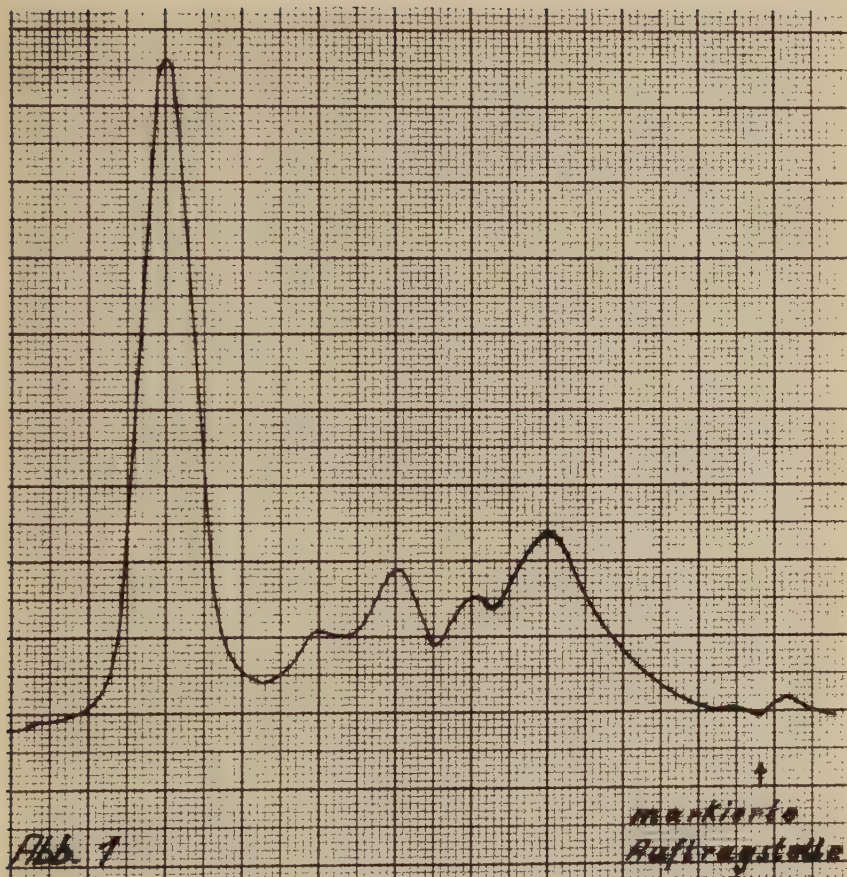
Als Beispiel für eine Verteilung in einem nicht beeinflussten Serum diene die Abbildung 1. Dieser Kurvenverlauf entspricht durchaus den Angaben der Literatur.

In Abb. 2 ist ein Beispiel für den Kurvenverlauf wiedergegeben, wie er nach Beeinflussung des Serums mit $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ nach 8 Std. bei Überdruck und einer Schichthöhe von 0,5 cm beobachtet werden kann.

Ergänzend sei erwähnt, daß auch bei längeren Einwirkungszeiten unter Druck CO_2 allein nicht dazu führte, daß ein Teil der aufgetragenen Serumprobe an der Auftragsstelle liegen blieb. Deswegen kann diese Erscheinung auf eine direkte Beeinflussung durch ÄO zurückgeführt werden.

Die oben angeführten Beobachtungen ließen sich regelmäßig wiederholen. Deswegen ist es in diesem Zusammenhang für eine prinzipielle Aussage unwesentlich, daß besonders bei den Versuchen mit dem Druckgerät von Versuchsreihe zu Versuchsreihe die Daten etwas schwanken.

Zusammenfassend kann man deswegen sagen, daß sich bei der Temperatur von 30°C oder darunter - ein Temperaturbereich, der im Hinblick auf die praktische Fragestellung besonders interessiert - die papierelektrophoretische Trennbarkeit von Serumeiweißfraktionen erst nach einer Einwirkungszeit von 4 Std. wesentlich verändert.



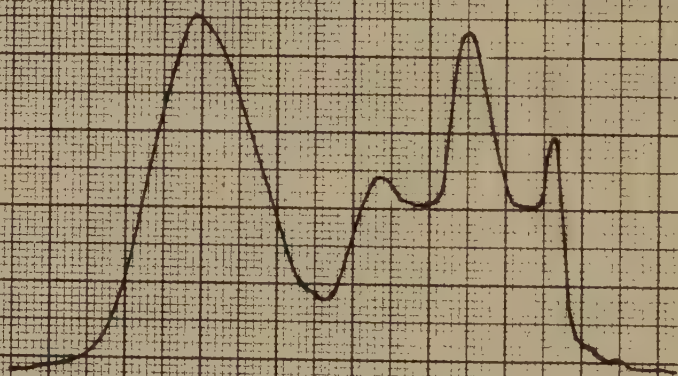


Abb. 2

↑
markierte
Aufragstelle

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß des für Desinfektionszwecke neuerdings häufiger gebrauchten Aethylenoxyds auf die papierelektrophoretische Trennbarkeit von Serumeiweißfraktionen unter Verwendung von Hammelserum untersucht.

Am empfindlichsten sind die α_1 - und β -Globulinfraktionen. Mit einer Aufhebung der Wanderung eines Teils des aufgetragenen Serums im elektrischen Feld ist bei Verwendung von Überdruck und Temperatur von 37°C bzw. 30°C nach einer Einwirkungszeit zwischen 4 und 8 Std. zu rechnen. Dies ist bei Zimmertemperatur (20 - 23°C), bei 30°C und bei 37°C auch bei einer Einwirkungszeit von 24 Std. ohne Überdruck nicht festzustellen.

Eine Ausfällung bzw. Denaturierung eines Serumanteils unter dem Einfluß von $\text{ÄO}/\text{CO}_2$ unter Druck bei 30 oder 37°C war makroskopisch bei einer 8-stündigen Einwirkungszeit in allen Flüssigkeitshöhen festzustellen. Während sich bei einer Flüssigkeitssäule von 0,5 cm die ganze Probe trübte, war dies bei einer solchen von 1,0 cm und 2,0 cm nur im oberen Anteil der Fall.

L I T E R A T U R

- 1) Beilstein Handbuch der organischen Chemie. 4. Auflage
z. Ergänzungswerk 17 : 9 (1952). Springer-Verlag
- 2) Bradish, C. J., W. M. Biochem. J. 56 : 329 (1954)
Handerson and A. B. Brooksby
- 3) Cohrs, P., R. Jaffé und Pathologie d. Laboratoriumstiere. Springer-Ver-
H. Meessen lag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1958)
- 4) Edsall, J. T. Adv. Protein. Chem. 3 : 399 (1947)
- 5) Fraenkel - Conrat, H. Journ. Biol. Chem. 145 : 227 (1944)
- 6) Geinitz, W. Klin. Wschr. 47/48 : 1108 (1954)
- 7) Gillissen, G., H. B. Naturwiss. 47/3 (1960)
Groeneveld
- 8) Gross and Dixon zit. Phillips und Kaye
- 9) Hawk, E. A., Sciences 121 : 442 (1957)
D. Nickelsen
- 10) Kaye, S., C. R. Phillips Am. J. Hyg. 50 : 296 (1949)
- 11) König, V. L., J. D. Per- Arch. Biochem. 22 : 377 (1949)
rings and F. Mundy
- 12) Lang, K., F. P. Feinen, Klin. Wschr. 217 (1951)
H. D. Cremer
- 13) Schonberger, T. W. J. Biol. Chem. 180 : 1147 (1949)
- 14) Phillips, C. R. and Am. J. Hyg. 50 : 270 (1949)
S. Kaye
- 15) Stürmer, K. Z. exper. Med. 117, 359 (1951)
- 16) Svensson, H. Ark. Kemi, Geol., Ser. A 22 : 1 (1946)
- 17) Waterstradt, K. Ärztl. Forschg. 600 : 181 (1952)
- 18) Wilson, A. T., J. exp. Med. 91 : 449 (1950)
P. Bruno

Herrn Professor Dr. Kliewe danke ich, daß ich in seinem Institut arbeiten durfte.

Für die Überlassung des Themas und die freundliche Anleitung bei der Verfertigung der Arbeit spreche ich Herrn Professor Dr. Dr.

Gillissen meinen herzlichen Dank aus.

Nicht zuletzt danke ich Fräulein Heusel für die Hilfe bei den technischen Arbeiten.

LEBENS LAUF

Als Tochter des praktischen Arztes Dr.med. Hans Dolhaine und seiner Ehefrau Maria Dolhaine, geb. Eversmann, wurde ich in Lüdenscheid am 11. Dezember 1935 geboren.

Ich besuchte dort neun Jahre das "Neusprachliche Mädchengymnasium" und erhielt im März 1956 das Reifezeugnis. An der Universität Mainz studiere ich Medizin. Im März 1959 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Im Wintersemester 1961/62 werde ich mich zum Staatsexamen melden.

